

## Synthesis of tris(hydroxymethyl)methane-substituted peptides

## Synthesis of tris(hydroxymethyl)methane-substituted peptides

Patent Number: CH640511  
Publication date: 1984-01-13  
Inventor(s): SCHAEFER DORIS DR (CH); SCHAEFER WERNER (CH); SCHAEFER ROLF DR (CH)  
Applicant(s): SCHAEFER CHEMISCHES INST AG (CH)  
Requested Patent: ☒ CH640511  
Application Number: CH19790003869 19790425  
Priority Number(s): CH19790003869 19790425  
IPC Classification: C07C103/52; C12N5/02  
EC Classification: C07K5/06A1A  
EC Classification: C07K5/06A1A  
Equivalents:

---

### Abstract

---

The invention relates to a synthesis of tris(hydroxymethyl)methane-substituted low molecular weight peptides which, as a result of this substitution, exhibit an excellent solubility in water and can be used as buffers having an extensive pH range when the peptide contains acid, neutral and/or basic amino acids. Certain substituted peptides of this class of compounds prove to be ideal, non-toxic, buffering substances for cultivating animal or human primary or continuous cell lines.

---

Data supplied from the **esp@cenet** database - I2



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT  
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

(51) Int. Cl.: C 07 C 103/52  
C 12 N 5/02

**Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein**  
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

(12) **PATENT**SCHRIFT A5

(11)

**640 511**

(21) Gesuchsnummer: 3869/79

(73) Inhaber:  
Chemisches Institut Schäfer AG Organ.Chem.  
Laboratorium für industrielle Forschung und  
Entwicklung, Oberwil BL

(22) Anmeldungsdatum: 25.04.1979

(24) Patent erteilt: 13.01.1984

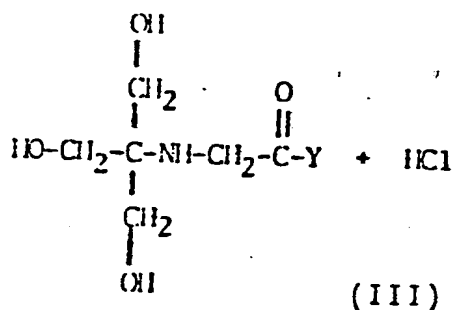
(45) Patentschrift  
veröffentlicht: 13.01.1984

(72) Erfinder:  
Dr. Rolf Schäfer, Pratteln  
Dr. Doris Schäfer, Arisdorf  
Werner Schäfer, Oberwil BL

**(54) Synthese von Tris-hydroxymethyl-methan substituierten Peptiden.**

(57) Die Erfindung betrifft eine Synthese von Tris-hydroxymethylmethan substituierten niederen Peptiden, die durch diese Substitution eine ausgezeichnete Wasserlöslichkeit aufweisen und als Puffer mit weitgespanntem pH-Bereich verwendet werden können, wenn das Peptid saure, neutrale oder/und basische Aminosäuren enthält.

Bestimmte substituierte Peptide dieser Verbindungs-klasse erweisen sich als ideale untoxische Puffersubstanzen für die Züchtung tierischer oder menschlicher primärer oder kontinuierlicher Zelllinien.



wobei X = Cl, Br, J und Y eine  $\alpha$ - $\delta$ - oder  $\alpha$ -l-Aminosäure, Di-, Tri- oder Tetrapeptid, bestehend aus  $\beta$ -,  $\gamma$ - oder  $\delta$ -Aminosäuren und deren Gemische, darstellen.

Die bei der Reaktion freiwerdende Salzsäure wird dadurch abgefangen, indem man für die Reaktion die Alkalisalze der Aminosäuren oder Peptide verwendet. Nach der Reaktion entstehen somit die inneren Salze der Tris-substituierten Aminosäuren und die entsprechenden Salze der Alkali- und Halogensgruppe. Die Reaktionen werden potentiometrisch verfolgt. Nach pH-Konstanz ist die Umsetzung vollständig.

Nimmt man zur Synthese N-2-halogenacetylierte  $\alpha$ -l-Aminosäuren, so werden Puffersubstanzen erhalten, welche für primäre und kontinuierliche Zelllinien in Konzentrationen bis zu 0,1 M absolut untoxisch sind.

#### Beispiel 1

Zu einer gesättigten, wässrigen Lösung von 1 Mol N-2-chloracetyl-1-methionin (Na-Salz) gibt man 1,05 Mol Tris-

3

hydroxymethyl-aminomethan und erwärmt das Gemisch zum Siedepunkt unter Rückfluss für vier Stunden. Nach Zusatz von Äthanol bis zum Trübungspunkt in der Hitze lässt man das Produkt (Tris-Gly-met) unter Abkühlen auskristallisieren.

#### Beispiel 2

Zu einer gesättigten, wässrigen Lösung von 1 Mol N-2-J-acetyl-1-tyrosin (Li-Salz) gibt man 1,05 Mol Tris-hydroxymethyl-aminomethan und erwärmt das Gemisch zum Siedepunkt unter Rückfluss und Lichtausschluss für 15 Minuten. Nach Zusatz von Äthanol bis zum Trübungspunkt in der Hitze lässt man das Produkt (Tris-Gly-Tyr) unter Abkühlen auskristallisieren.

10

#### Beispiel 3

Zu einer gesättigten, wässrigen Lösung von 0,1 Mol N-2-Br-acetyl-1-gly-1-arg-d-asp-1-threo (K-Salz) gibt man 0,1 Mol Tris-hydroxymethyl-aminomethan und erwärmt das Gemisch zum Siedepunkt unter Rückfluss und Lichtausschluss für 45 Minuten. Nach Zusatz von Isopropanol bis zum Trübungspunkt in der Hitze lässt man das Produkt (Tris-Gly-Gly-arg-ser-threo) unter Abkühlen auskristallisieren.

20

#### Beispiel 4

Zu einer gesättigten, wässrigen Lösung von 0,05 Mol N-2-chloracetyl- $\gamma$ -aminobuttersäure (K-Salz) gibt man 0,05 Mol Tris-hydroxymethyl-aminomethan und erwärmt das Gemisch zum Siedepunkt unter Rückfluss für fünf Stunden. Nach Zusatz von Propanol bis zum Trübungspunkt in der Hitze lässt man das Produkt (Tris-Gly- $\gamma$ -butyr) unter Abkühlen auskristallisieren.

25

30